

ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE *TUBER
MELANOSPORUM* VITT. EN CULTURE ISOLEE ET EN
ASSOCIATION AVEC DES VITROPLANTS DE *QUERCUS*
(*Q. ROBUR* ET *Q. PUBESCENS*).

Ammar BOUTEKRABT et Jean Claude PARGNEY

Laboratoire de Biologie des Ligneux
Université des Sciences de Nancy I. B.P. 239
54506 Vandoeuvre les Nancy Cedex.

RÉSUMÉ - Le mycélium de *Tuber melanosporum* et les mycorhizes qu'il forme avec *Quercus robur* et *Q. pubescens* ont fait l'objet d'une étude cytologique en microscopie électronique à balayage et à transmission. L'étude ultrastructurale des parois du champignon isolé et associé montre l'implication de la couche externe dans la constitution du ciment interhyphal. Des composés pariétaux issus des cellules corticales peuvent également s'incorporer au ciment qui sépare les deux symbiotes au niveau du réseau de Hartig. Les premiers stades de la mycorhization sont décrits. Des substances tanifères sont alors abondamment produites et les cellules corticales semblent réagir comme dans le cas d'attaque parasitaire. Les bactéries associées au mycélium auraient un rôle favorable dans la mycorhization. La symbiose entre les deux partenaires est limitée dans le temps car les cellules dégèrent rapidement; la mort des cellules corticales précède celle des hyphes. La mycorhization est assurée par la production d'hyphes libres à la surface des racines et par l'extension du système racinaire.

ABSTRACT - *T. melanosporum* mycelia and their mycorrhizae formed with *Quercus robur* and *Q. pubescens* were cytologically studied by both transmission and scanning electron microscopy. The ultrastructural study of the fungus walls when isolated or associated in mycorrhizae demonstrated that the outer layer was implicated in interhyphal matrix building. Wall components from cortical cells might also be incorporated in the matrix which separates the two symbionts in the Hartig net. The first stages of mycorrhization are described. Tannic substances were found to be produced in abundance and cortical cells seemed to react as in the case of a parasitic attack. The fact that bacteria are associated with the mycelium could suggest that they are beneficial for mycorrhization. Symbiosis between the two symbionts is time limited since cells rapidly degenerate; cortical cells die before the hyphae. Mycorrhization is ensured by free hyphae production on root surface and by root system extension.

MOTS CLÉS : *Tuber melanosporum*, vitroplants, *Quercus robur*, *Quercus pubescens*, tanins, bactéries, mycorhizes.

INTRODUCTION

Les travaux sur les associations ectomycorhiziennes, chez les Angiospermes, ont fait l'objet d'études cytologiques approfondies, réalisées en microscopie électronique à transmission (Chilvers, 1968; Strullu, 1974; Strullu & Gerault, 1977; Debaud et al., 1981; Dexheimer et al., 1985; Edwards & Gessner, 1984; Malajczuk et al., 1984; Leduc et al., 1986; Lei, 1988; Pargney & Leduc, 1990) et en microscopie électronique à balayage (Seviour et al., 1978; Malajczuk et al., 1984; Massicotte et al., 1986). Les premiers résultats publiés sur l'ultrastructure des mycorhizes ont été obtenus sur du matériel récolté dans la nature ou en pépinière. Une meilleure connaissance des techniques a permis de réaliser des synthèses mycorhiziennes en conditions contrôlées et de travailler sur des couples symbiotiques bien déterminés (Debaud et al., 1981; Fusconi, 1982; Duddridge & Read, 1984 a,b,c; Dexheimer et al., 1985; Duddridge, 1986 a, b; Kottke & Oberwinkler, 1986; Leduc et al., 1986; Massicotte et al., 1986; Lei, 1988; Boutekrabort et al., 1990).

Diverses espèces du genre *Tuber* sont utilisées expérimentalement pour la formation d'associations ectomycorhiziennes: *T. aestivus*, *T. albidum*, *T. brumale*, *T. melanosporum*, *T. mesentericum*, *T. rufum*, *T. uncinatum* (Scannerini, 1968b; Fontana & Palenzona, 1969; Fontana & Fasolo-Bonfante, 1971; Palenzona et al., 1972; Chevalier, 1973; Chevalier & Desmas, 1977; Delmas & Poitou, 1978; Dupré et al., 1982; Fusconi, 1982; Giovanetti & Fontana, 1982; Boutekrabort et al., 1990). Les partenaires végétaux, qui s'associent avec le genre *Tuber*, appartiennent à des genres très différents: *Fagus*, *Corylus*, *Carpinus*, *Populus*, *Betula*, *Quercus*, *Tilia*, *Picea*, *Cistus* etc... Plusieurs auteurs ont montré que le genre *Quercus*, en particulier *Quercus pubescens* et *Q. robur* ainsi que *Corylus avellana* présentent de bonnes aptitudes à former des mycorhizes avec les espèces du genre *Tuber* (Malençon, 1938; Fontana & Centrella, 1967; Palenzona, 1969; Chevalier, 1972; Chevalier et al., 1973; Delmas & Poitou, 1978; Dupré et al., 1982; Olivier & Mamoun, 1988). Pour son intérêt économique, la symbiose avec *Tuber melanosporum* a fait l'objet de recherches plus approfondies et les techniques de mycorhization sont actuellement parfaitement maîtrisées (Chevalier & Grente, 1978; Dupré et al., 1982; Olivier & Mamoun, 1988; Boutekrabort et al., 1990).

Cependant, les renseignements sur la cytologie et l'ultrastructure du mycélium manquent. Seuls les aspects physiologiques (Matruchot, 1903 a,b; Malençon, 1938; Ceruti, 1968; Fontana, 1968; Fontana & Fasolo-Bonfante, 1971; Grente et al., 1972; Vrot, 1977; Kulifaj, 1984) et la structure fine des carpophores et les ascospores matures (Parguey-Leduc et al., 1985 et 1987) sont bien connus. Il nous est paru intéressant d'entreprendre l'étude en microscopie électronique à balayage et à transmission du mycélium isolé et en association avec des vitroplants de chênes obtenue en conditions contrôlées.

MATERIEL ET METHIODES

TECHNIQUES D'OBTENTION DES MYCORRHIZES

Le mycélium de la souche Mel 24, de *Tuber melanosporum* Vitt., isolé à partir de gléba, est cultivé en milieu liquide, sur milieu de référence utilisé à l'INRA de Clermont-Ferrand.

Deux espèces de chênes: *Quercus robur* et *Q. pubescens*, sont cultivés *in vitro*, par micropropagation de boutures issues de semis de glands sur milieu de culture de Favre & Juncker (1986) dérivant du milieu de Murashige & Skoog (1962). Les vitroplants sont cultivés sur milieu de multiplication pendant 6 semaines puis, après induction de la rhizogenèse, sont transférés sur milieu solide (tourbe et vermiculite: 1/3 T, 2/3 V), imbibé de solution de synthèse, où ils subissent une phase d'acclimatation en mini-serre avant d'être inoculés selon la technique de Chevalier & Grente (1978) et de Boutekrabt et al. (1990). En fonction de la technique adoptée, plusieurs inoculum sont utilisés (spores provenant de broyat de carpophores, racines excisées inséminatrices ou mycélium cultivé sur milieu gélosé et plaqué contre les racines). L'apparition de la mycorrhization diffère, suivant le système et l'inoculum utilisé, de 30 à 60 jours. Les mycorrhizes obtenues sont de couleur claire, en forme de petites massues et correspondent à celles obtenues dans la nature ou en conditions contrôlées. Les mycorrhizes sont prélevées en fonction de leur morphologie: les jeunes mycorrhizes sont de couleur claire et en forme de petites boules ou légèrement allongées, matures elles sont brun-clair et de forme plus allongée.

TECHNIQUES CYTOLOGIQUES

- Microscopie électronique à balayage:

Les objets sont fixés par le glutaraldéhyde à 2,5 % dans du tampon cacodylate 0,1 M à pH 7,2 pendant 1 h. Ils sont ensuite rincés par le tampon cacodylate 0,2 M à pH 7,2 puis déshydratés dans des bains d'acétone de concentrations croissantes et immergés dans l'hexaméthylidizilazan (réf: 804324 Merck) pendant 10 mn.

Pour l'étude du mycélium, l'utilisation de la technique du point critique est indispensable, compte tenu de sa fragilité. Dans un premier temps, l'acétone est substitué par du CO₂ liquide puis est éliminé par la chaleur pour ne conserver que l'échantillon sec. Enfin les objets sont métallisés à l'or et observés à l'Autoscan réglé à 20 Kv.

- Microscopie électronique à transmission:

Le mycélium et les sections de mycorrhizes de 0,5 mm proches de l'apex sont fixés par le glutaraldéhyde à 2,5 % dans le tampon cacodylate à pH 7,2 pendant 5 à 7 h. Après lavage par le tampon, les objets sont postfixés 1 h par le tétr oxyde d'osmium à 2 % dans le tampon cacodylate à température de la glace fondante. Ils sont ensuite lavés, déshydratés par l'acétone et inclus dans la résine.

Pour un contrôle de la mycorhization, des coupes semi-fines (20 à 30 μ m) sont effectuées. Elles sont recueillies sur lame de verre, colorées à chaud par le bleu de toluidine à pH alcalin puis observées au microscope photonique.

Les coupes ultra-minces (6 à 10 μ m), sont contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (Reynolds, 1963) ou par le test PATAg de mise en évidence des polysaccharides (Thiery, 1967)

RESULTATS

LE MYCELIUM

Les hyphes issues de la germination des spores sont sinuées et de couleur jaune clair. Leur diamètre varie de 2 à 3 μ m. Les ramifications sont simples, peu fréquentes et naissent à angle droit. L'utilisation de la microscopie électronique à balayage permet d'observer une septation assez régulière et la présence de renflements de 4 à 6 μ m de diamètre alors que le point d'étranglement est d'environ 1,5 μ m (Fig. 1). L'extrémité de l'hyphe se termine parfois par un renflement (Fig. 2). La paroi, de 0,5 μ m d'épaisseur, montre une surface rugueuse sur laquelle se trouvent des bactéries en forme de batonnets (Fig. 2). La détermination des souches de bactéries a montré qu'elles appartiennent à l'espèce *Bacillus polymixa*. Il convient de signaler que le mycélium de *Tuber melanosporum* est toujours associé à des bactéries. La présence de bactéries semble favorable à la croissance du mycélium, comme le montre le développement limité en culture pure. En effet, en présence de chloramphénicol (1‰), dont l'action est anti-bactérienne, le développement du mycélium est très réduit: le diamètre représentant la croissance du mycélium en culture mixte pendant 30 jours est le double de celui de la culture pure.

La paroi apparaît, en microscopie électronique à transmission, pluristratifiée, quel que soit le contrastant utilisé: acétate d'uranyle - citrate de plomb (Fig. 3) et test PATAg (Fig. 4 et 5). Entre les articles, les cloisons perforées sont bordées de part et d'autre de corps de Woronin (Fig. 4). La surface est irrégulière et la couche externe, d'aspect mucilagineux, est impliquée dans les liaisons interhyphales (Fig. 5). Entre les articles, les cloisons sont perforées (Fig. 4). Les bactéries sont présentes aux abords immédiats du mycélium (Fig. 6). Dans les hyphes, les septa sont réguliers et les perforations sont bordées de grains de Woronin en nombre régulier (Fig. 4). Le cytoplasme vacuolisé renferme de nombreux organites (mitochondries, réticulum endoplasmique) et des grains de glycogène (Fig. 3, 4, 5) et des noyaux (Fig. 3).

LES MYCORHIZES

L'observation à la loupe binoculaire montre que les mycorhizes sont de petites massues plus ou moins trapues. Jeunes, elles sont de couleur claire mais en vieillissant, elles virent au brun clair puis au brun foncé. Elles sont ornementées de spinules perpendiculaires à la surface (Fig. 7), bien visibles

lorsqu'elles sont observées immergées dans l'eau. De même couleur que celle des hyphes, elles ont l'aspect de poils rigides avec une partie basale élargie qui s'insère à la surface de la mycorhize. La mycorhize est d'abord trapue puis elle s'allonge; de nouvelles mycorhizes apparaissent alors au niveau de la partie basale puis médiane. L'allongement dure plus longtemps que l'apparition de nouvelles mycorhizes (4 à 6 semaines pour l'allongement et 2 semaines seulement pour les autres). La mycorhize principale atteint 3 à 4 mm de longueur et les ramifications dépassent rarement 2mm.

En microscopie électronique à balayage, les jeunes mycorhizes sont recouvertes d'un manteau constitué d'hyphes agglomérées en plaques (Fig. 8) entre lesquelles prolifèrent des bactéries. Elles présentent également des hyphes libres (Fig. 8), parfois regroupées en amas (Fig. 9) qui longent la surface de la mycorhize et celle de la racine longue sous jacente (Fig. 8). En coupe, le manteau montre plusieurs couches d'hyphes (3 à 5) mais le réseau de Hartig n'est pas formé (Fig.10). Dans les mycorhizes plus âgées, la surface externe présente le même aspect mais les hyphes libres sont moins nombreuses (Fig. 11). En coupe, les hyphes du manteau sont de sections variées. Cette structure apparaît constante tout le long de la mycorhize. Le réseau de Hartig est présent (Fig. 12). Parfois, à l'apex des mycorhizes âgées, on observe un redémarrage de la croissance par écartement du manteau et allongement de la racine. Celle-ci est aussitôt recouverte d'hyphes (Fig. 11).

L'utilisation du microscope électronique à transmission permet de distinguer les phases successives de la formation de la mycorhize. Celle-ci débute par l'installation progressive des hyphes autour des racines courtes et aboutissent à l'établissement de la mycorhize mature.

I - Installation des hyphes

Les très jeunes racines courtes sont recouvertes progressivement d'hyphes qui se regroupent et s'accolent entre elles et à la surface racinaire par des fibrilles réactives au test PATAg (Fig. 13). Le mycélium ne forme pas encore un véritable manteau. Des bactéries et des dépôts denses aux électrons sont présents dans les espaces interhyphaux (Fig. 14). Le cytoplasme fongique est vacuolisé et il renferme un ou parfois plusieurs noyaux et quelques organites (mitochondries, réticulum endoplasmique) et surtout des ribosomes. Les cellules racinaires périphériques montrent une vacuole très développée dans laquelle s'accumulent, le long du tonoplaste, des dépôts denses correspondant à des tanins (Fig. 15); leur cytoplasme occupe une position pariétale et il présente de nombreux organites: les travées de réticulum endoplasmique et les ribosomes sont particulièrement abondants.

Dans les jeunes mycorhizes, seul le manteau est présent. Il est constitué de trois ou quatre couches d'hyphes (Fig. 16). Elles sont reliées entre elles par un ciment interhyphal dense aux électrons et qui, lorsque les hyphes sont légèrement séparées, apparaît plus lâche et d'aspect fibrillaire. Le manteau est limité intérieurement par des dépôts tanifères allongés qui bordent les cellules racinaires (Fig. 16). Cependant, des hyphes peuvent être parfois directement en relation avec la surface de la racine (Fig. 15).

Au stade suivant, les hyphes internes du manteau s'insinuent entre les dépôts tanifères (Fig. 17), pour former sous les tanins des files de cellules fongiques qui longent les cellules corticales (Fig. 18). Elles diffèrent des hyphes externes par leur section moins allongée et par un cytoplasme plus dense et riche en organites: elles sont peu vacuolisées et renferment notamment beaucoup de ribosomes (Fig. 18). Les cellules corticales sont par contre très vacuolisées et leur cytoplasme est plus contrasté que précédemment (Fig. 17).

Les mycorhizes montrent ensuite un début de formation du réseau de Hartig (Fig. 19). Les parois des cellules corticales voisines sont écartées par la pénétration des hyphes. La lamelle moyenne est alors altérée et ne subsiste plus que sous forme de fibrilles lâches reliant les deux parois séparées (Fig. 20). La paroi fongique émet dans l'espace ainsi créé des excroissances contrastées par le test PATAg (Fig. 19 et 20). La juxtaposition des deux partenaires conduit à la formation d'une interface au niveau de laquelle les parois fongique et racinaire sont parfaitement distinctes l'une de l'autre; la paroi des hyphes, notamment la zone externe, est plus marquée par le test PATAg que celle de la cellule corticale.

2- Ultrastructure de la mycorhize mature

Dans la mycorhize mature, le réseau de Hartig s'étend plus profondément sans atteindre le cylindre central. Il n'est toutefois pas présent dans la zone apicale où seul le manteau existe (Fig. 21). Les cellules racinaires adjacentes au manteau sont mortes et allongées par déformation; elles ne renferment que des tanins. Les cellules sous jacentes montrent par contre un cytoplasme pariétal très contrasté et une grande vacuole dans laquelle de nombreuses granulations denses sont présentes (Fig. 21).

Au niveau de la zone sous apicale, le réseau de Hartig est bien développé (Fig. 22). Il est formé d'hyphes vivantes intimement accolées aux cellules corticales. Entre les deux symbiotes, il existe une fine couche dense aux électrons et qui devient plus importante aux angles des cellules fongiques; elle constitue un ciment liant les deux partenaires. Le cytoplasme des hyphes est peu vacuolisé; les cellules corticales adjacentes sont dégénérantes (Fig. 22, 23). Dans la région basale, les cellules corticales et fongiques sont totalement dégénérées (Fig. 24).

DISCUSSION - CONCLUSION

Tuber melanosporum Vitt. montre les caractéristiques ultrastructurales des Ascomycètes: parois perforées, corps de Woronin, cloisons incomplètes (Scannerini, 1968 a; Debaud et al., 1981; Dexheimer et al., 1985; Kottke & Oberwinkler, 1986); toutefois, la formation de vésicules et de dilatations ne constitue pas un critère spécifique (Chevalier, 1973). Les caractères morphologiques du champignon isolé (structure, ornementation, couleur) sont déterminants pour la jeune mycorhize (Foster & Marks, 1966; Garbaye, 1990). La paroi des hyphes, de nature polysaccharidique est limitée extérieurement par une zone mucilagineuse qui assure, lors de la

mycorrhization, la cohésion des différents articles qui constituent le manteau. Le rapprochement des hyphes autour de la racine et leur accolement à la surface racinaire sont liés à la production de fibrilles polysaccharidiques (Lei, 1988; Thomson et al., 1989; Ba, 1990). La couche externe de la paroi fongique contribue donc à la formation d'un ciment interhyphal qui permet l'édification du manteau: lors de la mise en place du réseau de Hartig dans la jeune mycorhize, elle se trouve directement en contact avec la paroi des cellules corticales. Cette interface évolue puisque dans les mycorhizes matures, il apparaît, au niveau de la zone de contact entre les deux partenaires, un ciment. Celui-ci est marqué quel que soit le contrastant utilisé comme chez les mycorhizes à Ascomycètes (Scannerini, 1968b; Strullu & Gourret, 1980; Dexheimer et al., 1985; Pargney & Leduc, 1990). L'emploi du test PATAg permet la mise en évidence de sa nature polysaccharidique. La couche externe de la paroi fongique semble contribuer à sa formation; toutefois, les résidus de la lamelle moyenne visibles lors de l'installation du réseau de Hartig sous forme de fibrilles sont également impliqués. Ces diverses origines ont été mises en évidence par des techniques de cytochimie ultrastructurale (Pargney, 1990).

De par leur organisation générale, les mycorhizes obtenues en conditions contrôlées avec les vitroplants sont comparables à celles de la nature. Toutefois, des différences peuvent exister. L'une concerne l'évolution de l'interface au niveau du réseau de Hartig: si dans nos conditions de synthèse, le ciment qui sépare les deux partenaires s'installe rapidement, il est moins épais que dans les mycorhizes matures de *Tuber melanosporum* / *Corylus avellana* (Pargney & Leduc, 1990). La composition du milieu, la nature et l'âge des symbiotes seraient à l'origine de ces différences. La transformation de la morphologie des mycorhizes, (virement rapide de la couleur du clair au brun), est le reflet d'une évolution rapide de la mycorhize qui se traduit au niveau du réseau de Hartig par une dégénérescence précoce de cellules corticales puis des hyphes. De ce fait, l'évolution des interfaces et le développement du ciment sont en relation avec l'état physiologique des cellules adjacentes. Lorsque celles-ci dégèrent rapidement, le ciment est peu développé. Une autre différence par rapport aux mycorhizes de la nature concerne l'évolution du manteau: contrairement à ce qui est décrit dans certaines mycorhizes (Strullu & Gourret, 1973; Strullu & Gerault, 1977; Debaud et al., 1981) et notamment dans les mycorhizes formées avec les espèces du genre *Tuber* (Scannerini, 1968 b; Pargney & Leduc, 1990), nous n'observons pas la formation, dans le manteau des mycorhizes matures, de deux zones, l'une externe et morte, l'autre interne et vivante. Dans notre matériel, la mort des hyphes est simultanée dans toutes les cellules du manteau et elle correspond à la dégénérescence de la mycorhize.

Au cours de l'établissement de la mycorhize, les hyphes ne présentent pas toutes la même ultrastructure: celles directement en contact avec les cellules corticales montrent un cytoplasme plus dense, moins vacuolisé et plus riche en ribosomes que les hyphes de la zone externe du manteau. L'accroissement du nombre de ribosomes laisse supposer une augmentation de l'activité physiologique. On sait que les polysomes sont impliqués dans la synthèse des polypeptides et que certains sont spécifiques de la

mycorhization (Hilbert & Martin, 1988). La morphologie du cytoplasme et notamment des ribosomes, traduisent une activité fongique intense qui se poursuit jusqu'à la mort des cellules corticales; celle-ci précède toujours celle des hyphes. Elle est l'aboutissement d'une dégénérescence qui se manifeste par une accentuation progressive du contraste cytoplasmique. Si la mycorhize ne dégénère pas à la suite d'asphyxie ou de déséquilibre nutritionnel, elle peut avoir deux évolutions possibles: soit elle reprend sa croissance par l'apparition de nouvelles mycorhizes sur la partie basale et médiane de la mycorhize, soit l'apex perce le manteau et continue son évolution. Dans le cas où les conditions de milieu sont favorables à la croissance du champignon, la mycorhize se développe et continue d'accomplir la fonction définie dans le cadre de l'association ectomycorhizienne à savoir les échanges mutualistes. La propagation de la mycorhization paraît assurée par la présence des hyphes libres liées au manteau. Dans nos conditions de synthèse, elle s'effectue par l'installation du manteau puis par la formation du réseau, comme dans d'autres mycorhizes (Harley, 1969; Strullu & Gourret, 1980). Toutefois, dans certains cas, les hyphes du réseau peuvent assurer la formation du manteau et participer à l'extension de la mycorhization (Nylund, 1981; Fusconi, 1982); tout dépend de l'abondance du mycélium et de sa virulence.

Au cours de la formation de la mycorhize, nous avons noté l'importance des composés taninifères qui se développent dans les vacuoles des cellules de la plante-hôte et s'accumulent en de larges bandes autour de la racine; la progression des hyphes paraît ainsi freinée. La formation de tanins dans les cellules des jeunes mycorhizes traduit une réaction de la plante comparable aux réactions de défense décrites lors des attaques parasitaires (Biehn et al., 1968; Heath & Heath, 1971; Ravisé & Tanguay, 1973; Littlefield & Bracker, 1972; El Khatib et al., 1974; Coffey, 1975; Steinkamp et al., 1979; Beakes et al., 1982). Divers auteurs ont remarqué la production de composés phénoliques dans les ectomycorhizes (Foster & Marks, 1966; Chilvers, 1968; Scannerini, 1968 b; Marks & Foster, 1973; Carrasco et al., 1977, 1978; Piche et al., 1983; Malajczuk et al., 1984; Duddridge & Read, 1984; Kottke & Oberwinkler, 1986); leur présence a été signalée soit dans les vacuoles des cellules corticales (Bonfante-Fasolo & Scannerini, 1977; Ling-Lee et al., 1977; Debaud et al., 1981; Nylund & Unestam, 1982; Duddridge & Read, 1984 c; Malajczuk et al., 1984), soit entre le manteau et la surface racinaire (Scannerini & Bonfante-Fasolo, 1982). Ils peuvent constituer, dans les mycorhizes matures, une véritable couche à tanins (Foster & Marks, 1966; Hofsten, 1969; Warmbrodt & Eschrich, 1985). Le genre *Quercus* est très riche en substances phénoliques. En culture *in vitro*, les substances phénoliques sont rapidement libérées dans le milieu de culture lors du rafraichissement de la base de la bouture. Ces substances sont toxiques car les boutures non transférées après la sécrétion des phénols ont un développement réduit voire nul si l'envahissement du milieu est total.

L'association des bactéries avec le genre *Tuber* a déjà été signalée par plusieurs auteurs (Vrot, 1977; Kulifaj, 1984; Mamoun et al., 1986). Elles peuvent stimuler l'établissement de la mycorhization (Bowen & Theodorou, 1979; Garbaye & Bowen, 1989; Meyer & Linderman, 1986). Chez les

endomycorhizes, elles induiraient des modifications au niveau des structures pariétales de la racine qui faciliteraient la pénétration du champignon (Mosse, 1962). Mamoun et al. (1986) constatent un antagonisme entre *Pseudomonas* et mycélium de *Tuber* cultivé *in vitro*. Olivier & Mamoun (1988) et Mamoun & Olivier (1989) dans une étude sur la dynamique des populations fongiques de la rhizosphère des noisetiers truffiers (relation avec le statut hydrique du sol puis chélation du fer et répartition taxonomique chez les *Pseudomonas* fluorescents), décrivent un antagonisme direct et une compétition en relation avec le potentiel hydrique. Ils observent en outre une corrélation étroite entre les effectifs de *Pseudomonas* fluorescents et la teneur en eau au niveau du rhizoplan de noisetiers truffiers alors qu'elle n'existe pas dans le sol nu.

Ainsi, *Tuber melanosporum* forme avec des vitroplants de *Quercus robur* et *Q. pubescens* des ectomycorhizes typiques qui dans nos conditions de synthèse évoluent rapidement. La cohésion des hyphes constituant le manteau est assurée par la zone externe de la paroi fongique. Celle-ci participe aussi à la formation du ciment qui sépare les deux partenaires dans le réseau de Hartig; d'autres constituants, tels des résidus de la lamelle moyenne séparant les cellules corticales, sont également impliqués. Au début de la mycorhization, les tanins produits par la racine servent probablement de réaction de défense des racines courtes avant la symbiose et correspondent à une couche d'isolement comme étant l'expression de la cellule-hôte à la pénétration du champignon. Les bactéries interviendraient dans la mycorhization par la stimulation du mycélium. La symbiose qui s'établit entre les deux partenaires est momentanée et se fait tant que les cellules sont vivantes. De par son cytoplasme dense et riche en ribosomes, le champignon semble particulièrement actif. La dégénérescence de celles-ci est rapide et entraîne la mort des éléments fongiques adjacents. Les échanges entre les deux symbiontes sont donc limités dans le temps et dans l'espace. Cependant, la propagation de la mycorhization semble assurée par des hyphes externes libres et la production de nouvelles racines courtes.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Monsieur Gerard Chevalier de l'INRA de Clermont-Ferrand, de leur avoir donné l'inoculum pour la mycorhization de vitroplants de chênes.

BIBLIOGRAPHIE

- BA A.M., 1990 - Contribution à l'étude de la symbiose ectomycorhizienne chez deux essences forestières d'Afrique intertropicale: *Azelia africana* Sm. et *Uapaca guineensis* Müll. Arg. Thèse Univ. Sci. Techn. Languedoc.
- BEAKES G.W., SINGH H. and DICKINSON C.H., 1982 - Ultrastructure of the host-pathogen interface of *Peronospora viciae* in cultivars of pea which show different susceptibilities. *Pl. Pathol.* 31: 343-354.
- BIEHN W.L., KUC J. and WILLIAMS E.B., 1968 - Accumulation of phenols in resistant Plant-Fungi. *Phytopathology* 58: 1255-1260.

- BONFANTE-FOSALO P. and SCANNERINI S., 1977 - Cytological observations on the mycorrhiza *Endogone flamicorona* / *Pinus strobus*. *Allionia* 22: 23-34.
- BOUTEKRABT A., CHEVALIER G., PARGNEY J.C. et DEXHEIMER J., 1990 - Mycorrhization par *Tuber melanosporum* Vitt. de vitroplants de *Quercus robur* L. et *Q. pubescens* Willd. *Agronomie* 10: 127-132.
- BOWEN G.D. and THEDOROU C., 1979 - Interactions between bacteria and ectomycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* 11: 119-126.
- CARRASCO A., MARIGO G. and BOUDET A.M., 1977 - Induction d'une résistance à la fusariose par augmentation du contenu phénolique chez *Lycopersicon esculentum*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., sér. D.* 298: 1801-1804.
- CARRASCO A., BOUDET A.M. and MARIGO G., 1978 - Enhanced resistance of tomato plants to *Fusarium* by controlled stimulation of their natural phenolic production. *Physiol. Pl. Pathol.* 12: 225-232.
- CERUTI A., 1968 - Biologia e possibilità di coltivazione dei Tartufi. *Atti Cong. Int. Tartufo* (Spoleto), 1-17.
- CHEVALIER G., 1972 - Obtention de culture de mycélium de truffe à partir de carpophore et des mycorrhizes. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 12: 981-989.
- CHEVALIER G., 1973 - Synthèse axénique des mycorrhizes *Tuber brumale* Vitt. à partir de cultures pures du champignon. *Ann. Phytopathol.* 5: 163-182.
- CHEVALIER G., GRENTE J. et POLLACSEK A., 1973 - Obtention de mycorrhizes de différents *Tuber* par synthèse à partir de spores en conditions gnotoxéniques et à partir de cultures pures de mycélium en conditions axéniques et gnotoxéniques. *Ibidem* 5: 107-108.
- CHEVALIER G. et DESMAS C., 1977 - Mycorrhization de *Tuber melanosporum* de plants de *Quercus pubescens* en culture hydroponique sensu stricto. *Ibidem* 9: 532.
- CHEVALIER G. et GRENTE J., 1978 - Application pratique de la symbiose ectomycorhizienne: production à grande échelle de plants mycorrhizés par la truffe (*Tuber melanosporum* Vitt.). *Mushroom Sci.* X: 483-505.
- CHILVERS G.A., 1968 - Low-power electron microscopy of the root cap region of Eucalypt mycorrhizas. *New Phytol.* 67: 663-665. Some distinct types of Eucalypt mycorrhizas. *Austral. J. Bot.* 16: 49-70.
- COFFEY M.D., 1975 - Ultrastructure features of the haustorial apparatus of the white blister fungus *Albugo candida*. *Canad. J. Bot.* 55: 1285-1299.
- DEBAUD J.C., PEPIN R. et BRUCHET R., 1981 - Ultrastructure des ectomycorhizes synthétiques à *Hebeloma alinum* et *Hebeloma marginatum* des *Dryas octopetala*. *Canad. J. Bot.* 59: 2160-2166.
- DELMAS J. et POITOU N., 1978 - La mycorrhization de *Quercus pubescens* par *Tuber melanosporum* en conditions contrôlées: influence de quelques facteurs du milieu. *Mushroom Sci.* X: 995-1006.
- DEXHEIMER J., GERARD J., LEDUC J. P. et CHEVALIER G., 1985 - Etude ultrastructurale comparée des associations symbiotiques mycorhiziennes *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia clavaryi* et *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia leptoderma*. *Canad. J. Bot.* 63: 582-591.
- DUDDRIDGE J.A. and READ D.J., 1984 a - The development and ultrastructure of mycorrhizas. I. Ectomycorrhizal development on pine in the field. *New Phytol.* 96: 565-573.

- DUDDRIDGE J.A. and READ D.J., 1984 b - The development and ultrastructure of mycorrhizas. II. Ectomycorrhizal development on pine *in vitro*. *Ibidem* 96: 575-582.
- DUDDRIDGE J.A. and READ D.J., 1984 c - Modifications of the host-fungus interface in mycorrhizas synthesized between *Suillus bovis* (Fr.) O. Fontz and *Pinus sylvestris* L. *Ibidem* 96: 583-588.
- DUDDRIDGE J. A., 1986 a - The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. III. Compatible and incompatible interactions between *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. and 11 species of ectomycorrhizal hosts *in vitro* in the absence of exogenous carbonate. *Ibidem* 103: 457-464.
- DUDDRIDGE J.A., 1986 b - The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. IV. Compatible and incompatible interactions between *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. and a number of ectomycorrhizal hosts *in vitro* in the presence of exogenous carbohydrate. *Ibidem* 103: 465-471.
- DUPRE C., CHEVALIER G., MORIZET J. et LEBLEVENEC L., 1982 - Influence de l'azote et du phosphore sur la mycorrhization de *Quercus pubescens* Willd. par *Tuber melanosporum* Vitt. en conditions contrôlées. *Les colloques de l'INRA* 13: 147-153.
- EDWARDS H.H. and GESSNER V.R., 1984 - Light and transmission electron microscopy of English oak ectomycorrhizal short roots. *Canad. J. Bot.* 62: 1327-1335.
- EL KHATIB A., ARAMOUNI A., HASSAN A. et RAVISE A., 1974 - Accumulation de composés phénoliques et de phytoalexines par des variétés de tomate cultivées sur des sols infectés au Liban. *Phytopathol. Z.* 81: 23-37.
- FAVRE J.M. and JUNCKER J., 1986 - *In vitro* growth of buds taken from seedlings and adult plant material in *Quercus robur* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 8: 49-60.
- FONTANA A. e CENTRELLA E., 1967 - Ectomycorrizze prodotte de funghi ipogei. *Allione* 13: 149-176.
- FONTANA A., 1968 - Miceli di funghi ipogei in coltura pura. *Atti Congr. Int. Tartufo* (Spoleto), 127-133.
- FONTANA A. e PALENZANO M., 1969 - Sintesi micorrizica di *Tuber albidum* in coltura pura, con *Pinus strobus* e pioppo euromericano. *Allione* 15: 99-104.
- FONTANA A. e FASOLO-BONFANTE P., 1971 - Sintesi micorrizica di *Tuber brumale* Vitt. con *Pinus nigra* Arnold. *Ibidem* 17: 15-18.
- FOSTER R.C. and MARKS G.C., 1966 - The fine structure of the mycorrhizas of *Pinus radiata* D. Don. *Austral. J. Bot.* 19: 1027-1038.
- FUSCONI A., 1982 - Formation of the mantle and Hartig net in ectomycorrhizae of "*Cistus incanus*" x *Tuber melanosporum*. *Caryologia* 35: 374-375.
- GARBAYE J. and BOWEN G.D., 1989 - Stimulation of ectomycorrhizal infection of *Pinus radiata* by microorganisms associated with the mantle of ectomycorrhizas. *New Phytol.* 112: 383-388.
- GARBAYE J., 1990. Pourquoi et comment observer l'état mycorrhizien des plants forestiers. *Rev. Forest. France* 42: 35-47.
- GIOVANETTI G. and FONTANA A., 1982 - Mycorrhizal synthesis between Cystaceae and Tuberaceae. *New Phytol.* 92: 533-537.
- GRENTE J., CHEVALIER G. et POLLASCEK A., 1972 - La germination de l'ascospore de *Tuber melanosporum* et la synthèse sporale des mycorrhizes. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D.* 275: 743-746.

- HARLEY J.L., 1969 - *The biology of mycorrhiza*. London, Leonard Hill., 334 p.
- HEATH M.C. and HEATH I.B., 1971 - Ultrastructure of an immune and a susceptible reaction of crowpea leaves to rust infection. *Physiol. Pl. Pathol.* 1: 277-287.
- HILBERT J.L. and MARTIN F., 1988 - Regulation of gene expression in ectomycorrhizas. I. Protein changes and the presence of ectomycorrhiza-specific polypeptides. *New Phytol.* 110: 339-346.
- HOFSTEN., 1969 - The ultrastructure of mycorrhiza. I. Ectotrophic and endotrophic mycorrhiza of *Pinus sylvestris*. *Svensk. Bot. Tidskr.* 63: 455-463.
- KOTTKE I. and OBERWINKLER F., 1986 - Roots-fungus interactions observed on initial stages of mantle formation and Hartig net establishment in mycorrhizas of *Amanita muscaria* on *Picea abies* in pure culture. *Canad. J. Bot.* 64: 2348-2354.
- KULIFAJ M., 1984 - *Tuber melanosporum* Vitt. Contribution à l'étude de la morphogénèse et de la Physiologie de l'ascocarpe. Doct. 3ème cycle. Univ. Sci. Paul Sabatier, Toulouse.
- LEDUC J.P., DEXHEIMER J. et CHEVALIER G., 1986 - Etude ultrastructurale comparée des associations de *Terfezia leptoderma* avec *Helianthemum salicifolium*, *Cistus albidus* et *Cistus salviaefolius*. In: Aspects physiologiques et génétiques des mycorrhizes. Actes du 1er symposium européen sur les mycorrhizes (Dijon, 1-5.7.85), Paris, I.N.R.A., 291-295.
- LEI J., 1988 - Etude expérimentale des systèmes symbiotes mycorrhiziens de quelques espèces ligneuses. Application pratique à la mycorrhization de vitroplants. Thèse Doct. Univ. Nancy I.
- LING-LEE M., ASHFORD A.E. and CHILVERS G.A., 1977 - A histochemical study of polysaccharide distribution in eucalypt mycorrhizas. *New Phytol.* 75: 551-554.
- LITTLEFIELD L.J. and BRACKER C.E., 1972 - Ultrastructural specialization at the host-pathogen interface in the rust-infected flax. *Protoplasma* 74: 271-305.
- MALENÇON M.G., 1938 - Les truffes européennes. *Rev. Mycol. (Paris) Mém. H.S.* n°1: 92p.
- MALAJCZUK N., MOLINA R. and TRAPPE J.M., 1984 - Ectomycorrhiza formation in Eucalyptus. II. The ultrastructure of compatible and incompatible mycorrhizal fungi and associated roots. *New Phytol.* 96:43-53.
- MAMOUN M., POITOU N. et OLIVIER J.M., 1986 - Etude des interactions entre *Tuber melanosporum* Vitt. et son environnement biotique. In: Aspects physiologiques et génétiques des mycorrhizes. Actes du 1er symposium européen sur les mycorrhizes, (Dijon, 1-5.7.85), Paris, I.N.R.A., 761-765.
- MAMOUN M. et OLIVIER J.M., 1989 - Dynamique des populations fongiques et bactériennes de la rhizosphère des noisetiers truffiers. II. Chélation du fer et répartition taxonomique chez les *Pseudomonas* fluorescents. *Agronomie* 9: 345-351.
- MARKS G.C. and FOSTER R.C., 1973 - Structure, morphogenesis and ultrastructure of mycorrhizae. In: G.C. MARKS & T.T. KOZLOWSKI, *Ectomycorrhizae*. Academic Press: 1-41.
- MASSICOTTE H.B., PETERSON R.L., ACKERLEY C.A. and PICHEN Y., 1986 - Structure and ontogeny of *Alnus crispa*-*Alpova diplophloeus* ectomycorrhizae. *Canad. J. Bot.* 64: 177-192.

- MATRUCHOT L., 1903 a- Germination des spores de truffes; culture et caractère du mycélium truffier. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 136: 1099-1101.
- MATRUCHOT L. 1903 b- Sur les caractères botaniques du mycélium truffier. *Ibidem* 136: 1337-1338.
- MEYER J.M and LINDERMAN R.G., 1986 - Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular fungi and plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biol. Biochem.* 18: 185-190.
- MOSSE B., 1962 - The establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza under aseptic conditions. *J. Gen. Microbiol.* 27: 509-520.
- MURASHIGE T. et SKOOG F., 1962 - A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Pl.* 15: 473-497.
- NYLUND J. E., 1981 - The formation of ectomycorrhiza in conifers: Structural and physiological studies with special reference to the mycobiont, *Piloderma croceum* (Erikss. and Hjortst.). *Acta Univ. Uppsala* 615: 3-34.
- NYLUND J. E. and UNESTAM T., 1982 - Structure and physiology of mycorrhizae. I. The process of mycorrhiza formation in Norway spruce *in vitro*. *New Phytol.* 53: 253-283.
- OLIVIER J. M et MAMOUN M., 1988 - Dynamique des populations fongiques et bactériennes de la rhizosphère des noisetiers truffiers. I. Relation avec le statut hydrique du sol. *Agronomie* 8: 711-717.
- PALENZONA M., 1969 - Sintesi micorrizica tra *Tuber aestivum*, *T. brumale*, *T. melanosporum* e semenzali di *Corylus avellana*. *Allione* 15: 121-131.
- PALENZONA M., CHEVALIER G. e FONTANA A., 1972 - Sintesi micorrizica tra *Tuber brumale* Vitt., *Tuber melanosporum* Vitt., *T. rufum* Pico, in coltura di micelio, e semenzali di conifere e latifoglie. *Ibidem* 18: 41-52.
- PARGNEY J.C. et LEDUC J.P., 1990 - Etude ultrastructurale de l'association mycorrhizienne Noisetier Truffe. (*Corylus avellana* / *Tuber melanosporum*). *Bull. Soc. Bot. France, Lettres Bot.*, 137: 21-34.
- PARGNEY J.C., 1990 - Essais de caractérisation cytochimique des structures de l'interface au niveau du réseau de Hartig dans l'association ectomycorhizienne entre la Truffe (*Tuber melanosporum*) et le Noisetier (*Corylus avellana*). *Canad. J. Bot.* 68 (sous presse).
- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1985 - Le stade apothécioïde de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., sér. III*, 301: 143-145.
- PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1987 - Morphologie et structure de l'ascocarpe adulte de *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes). *Cryptogamie, Mycol.* 8: 173-202.
- PICHE Y., PETERSON R.L., HOWARTH M.J. et FORTIN J.A., 1983 - A structural study of the interaction between the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* and *Pinus strobus* roots. *Canad. J. Bot.* 61: 1185-1193.
- RAVISE A. et TANGUEY J., 1973 - Etude des réactions phénoliques de plantules de *Nicotiana* inoculées par des souches de *Phytophthora* de By. *Phytopathol. Z.* 76: 253-264.
- REYNOLDS E.S., 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17: 208-212.
- SCANNERINI S., 1968 a - Setti con "corpi di woronin" in *Tuber magnatum* Pico. *Allione* 14: 63-76.

- SCANNERINI S., 1968 b - Sull'ultrastruttura delle ectomicorrizze. II. Ultrastruttura di una micorrizza di Ascomicete: *Tuber album* x *Pinus strobus*. *Ibidem* 14: 77-95.
- SCANNERINI S. et BONFANTE-FASOLO P., 1982 - Données actuelles sur la cytologie des mycorhizes. *Les colloques de l'INRA* 13: 25-40.
- SEVIOUR R.J., HAMILTON D. and SCHILVERS G.A., 1978 - Scanning electron microscopy of surface features of Eucalypt mycorrhizas. *New Phytol.* 80: 153-156.
- STEINKAMP M.P., MARTIN S.S., HIOEFERT L.L. and RUPPELL E. G., 1979 - Ultrastructure of lesions produced by *Cercospora beticola* in the leaves of *Beta vulgaris*. *Physiol. Pl. Pathol.* 15: 13-26.
- STRULLU D.G. et GOURRET J.P., 1973 - Etude des mycorhizes ectotrophes de *Pinus brutia* T. en microscopie électronique à balayage et à transmission. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., sér. D*, 277: 1757-1760.
- STRULLU D.G., 1974 - Etude ultrastructurale du réseau de Hartig d'une ectomycorrhize à Ascomycètes de *Pseudotsuga menziesii* Mirb. *Ibidem* 278: 2139-2142.
- STRULLU D.G. et GERAULT A., 1977 - Etude des ectomycorhizes à Basidiomycètes et à Ascomycètes du *Betula pubescens* (Ehrh.) en microscopie électronique. *Ibidem* 284: 2243-2244.
- STRULLU D.G. et GOURRET J.P., 1980 - Données ultrastructurales sur l'intégration cellulaire de quelques parasites ou symbiotes de plantes. II. Champignons mycorrhiziens. *Bull. Soc. Bot. France, Actual. Bot.*, 127: 97-106.
- THIERY J.P., 1967 - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscop.* 6: 987-1017.
- THOMSON J., MELVILLE H. R. and PETERSON L., 1989 - Interaction between the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* and root hairs of *Picea mariana* (Pinaceae). *Amer. J. Bot.* 76: 632-636.
- VROT F., 1977 - Influence de certains facteurs sur la croissance du mycélium truffier cultivé *in vitro*. Doct. 3ème cycle, Univ. Sci. Nancy I.
- WARMBRODT D. D. and ESCHRICH W., 1985 - Studies on the mycorrhizas of *Pinus sylvestris* L. produced *in vitro* with the basidiomycète *Suillus variegatus* (SW. ex Fr.) O. Kuntze. I. Ultrastructure of the mycorrhizal rootlets. *New Phytol.* 100: 215-223.

LÉGENDE DES PLANCHES

Fig. 1: Vue d'ensemble d'hyphes en microscopie électronique à balayage. Noter la présence de renflements (*). Echelle: 1µm. Fig. 1: Hyphal over view in scanning electron microscopy. Notice the presence of swellings (*). Scale: 1µm.

Fig. 2: Détail d'une hyphe présentant un apex renflé. Echelle: 1µm. Fig. 2: Detail of an hypha showing a swollen apex. Scale: 1µm.

Fig. 3: Coupe transversale d'une hyphe en microscopie électronique à transmission: la paroi est formée de plusieurs strates. Acétate d'uranyle - citrate de plomb. Echelle: 1µm. Fig. 3: Cross sectional area of an hypha in transmission electron microscope: the wall is composed of several layers. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: 1µm.

Fig. 4: Coupe d'hyphe montrant une cloison perforée entourée de part et d'autre de corps de Woronin (W). Test PATAg. Echelle: $1\mu\text{m}$. Fig. 4: Cross section area showing a perforated wall surrounded with a Woronin body (W). PATAg test. Scale: $1\mu\text{m}$.

Fig. 5: L'association entre deux hyphes se fait par accolement des parois externes sous forme de mucilage. Test PATAg. Echelle: $0,7\mu\text{m}$. Fig. 5: Two hyphae are combined by mucusing of the external walls. PATAg test. Scale: $0,7\mu\text{m}$.

Fig. 6: Des bactéries en forme de bâtonnets sont très abondantes aux abords immédiats des hyphes. Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: $1\mu\text{m}$. Fig. 6: Bacillus bacteria are very abundant in the immediate surroundings of the hyphae. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: $1\mu\text{m}$.

Fig. 7: Vue macroscopique de mycorhizes obtenues en conditions contrôlées. La présence de spinules (Flèche) perpendiculaires à la surface de la racine constitue le caractère spécifique des mycorhizes de *Tuber melanosporum*. Fig. 7: Macroscopic view of mycorrhizae produced in controlled environment. The presence of spinulae (arrow) normal to the root surface is specific to the *Tuber melanosporum*.

Fig. 8: Vue d'ensemble d'une jeune mycorhize en microscopie électronique à balayage. Les hyphes du manteau sont agglomérées entre elles en plaques. Des hyphes libres sont présentes sur la surface du manteau et longent la racine longue adjacente. Echelle: $1\mu\text{m}$. Fig. 8: Overview of a young mycorrhiza through a scanning electron microscope. The hyphae of the mantle are gathered in the form of tablets. The free hyphae are present on the surface of the mantle and along the adjacent long root. Scale: $1\mu\text{m}$.

Fig. 9: Les hyphes libres se présentent parfois en amas sur la surface du manteau. Echelle: $0,5\mu\text{m}$. Fig. 9: The free hyphae are sometimes clustered on the mantle surface. Scale: $0,5\mu\text{m}$.

Fig. 10: Coupe transversale d'une jeune mycorhize en microscopie électronique à balayage. Le manteau (M) est peu épais et le réseau de Hartig n'est pas présent. Echelle: $0,5\mu\text{m}$. Fig. 10: Cross sectional area of a young mycorrhiza through scanning electron microscope. The mantle (M) is thin; the Hartig net is not present. Scale: $0,5\mu\text{m}$.

Fig. 11: Détail d'une mycorhize âgée présentant un redémarrage de l'apex (*) par écartement du manteau. Des hyphes libres (flèche) sont peu abondantes sur la surface du manteau. Echelle: $0,25\mu\text{m}$. Fig. 11: Detail of an aged mycorrhiza showing a resumption of the apex (*) through the mantle. The free hyphae are not very abundant on the surface of the mantle (arrow). Scale: $0,25\mu\text{m}$.

Fig. 12: Coupe transversale d'une mycorhize mature. Les hyphes du manteau (M) sont de sections variées. Le réseau de Hartig (RH) est présent. Echelle: $1\mu\text{m}$. Fig. 12: Cross section of an adult mycorrhiza. The mantle hyphae have various sections (M). The Hartig net is found (HR). Scale: $1\mu\text{m}$.

Fig. 13: Lors du début de la synthèse, les hyphes s'accrochent entre elles et à la surface de la racine par l'émission de fibrilles. Les bactéries (b) sont déjà présentes. Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: $1\mu\text{m}$. Fig. 13: At the beginning of a synthesis, the hyphae stick together and on the surface of the root by emission of fibrils. A bacteria (b) are already present. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: $1\mu\text{m}$.

Fig. 14: Vue d'ensemble d'un jeune manteau où les hyphes sont de différentes sections et renferment de nombreux organites. Les bactéries (b) sont présentes dès le début d'infection. Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: $1\mu\text{m}$. Fig. 14: Overview of a young mantle where the hyphae have various cross sections and contain numerous organelles. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: $1\mu\text{m}$.

Fig. 15: Lors du début de la mycorrhization, le contact entre les hyphes et les cellules corticales (Cc) est intime. Les hyphes émettent des fibrilles à l'approche des cellules corticales (Cc) qui présentent de nombreuses travées de réticulum endoplasmique et des tanins dans les vacuoles. Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: 1 μ m. Fig. 15: At the beginning of a mycorrhization, the contact between the hyphae and the cortical cells (Cc) is close. The hyphae emit fibrils when approaching the cortical cells (Cc) which present a large number of endoplasmic reticulum and tannins in the vacuoles. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: 1 μ m.

Fig. 16: L'évolution de la mycorrhization est souvent freinée par des bandes à tanins (T). Le contact entre les hyphes du manteau et les cellules corticales (Cc) est alors indirect. Les hyphes présentent un cytoplasme vacuolisé avec de nombreux organites. Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: 1 μ m. Fig. 16: Mycorrhization is often slowed down by tannic bands (T). The contact between the mantle hyphae and the cortical cells is then indirect. The hyphae are composed of a vacuolized cytoplasm and a large number of organelles. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: 1 μ m.

Fig. 17: Lors du développement de la mycorrhization, l'hyphe s'insinue entre les bandes à tanins (T) et progresse vers les cellules corticales (Cc) pour la formation du réseau de Hartig. Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: 1 μ m. Fig. 17: During a mycorrhization, a hypha worm its ways between the tannic bands (T) and move towards the cortical cells (Cc) to constitute the Hartig net. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: 1 μ m.

Fig. 18: L'insinuation de l'hyphe sous les bandes à tanins (T) entraîne la formation d'un manteau interne (Mi) dont les hyphes sont en file et de section peu allongée. Elles sont moins vacuolisées et ont un cytoplasme plus dense que celles du manteau externe (Me). Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: 1 μ m. Fig. 18: The introduction of the hypha through the tannic bands (T) leads to the building of an inner mantle (Mi) whose hyphae are aligned and have short cross sections. They are less vacuolated and their cytoplasm is denser than that of outer mantle. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: 1 μ m.

Fig. 19: Durant la formation du réseau de Hartig, la lamelle moyenne est écartée. L'interface se caractérise par l'absence de ciment. La couche externe de la paroi fongique est réactive au test PATAg et émet des excroissances dans les espaces interhyphaux. Echelle: 1 μ m. Fig. 19: During the formation of the Hartig net, the middle lamella is moved away, the interface is characterized by the absence of matrix. The external layer of the fungal wall is reactive to the PATAg test and produces outgrowths in the interhyphal spaces. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: 1 μ m.

Fig. 20: L'installation du réseau de Hartig provoque la séparation des cellules corticales; dans l'espace ainsi créé, des résidus de la lamelle moyenne sont présents sous forme de fibrilles (flèche). Test PATAg. Echelle: 1 μ m. Fig. 20: The installation of Hartig net produces the separation of the cortical cells; fibrils that are found in these intercellular spaces are the remnants of middle lamella (arrow). PATAg test. Scale: 1 μ m.

Fig. 21: Chez les mycorrhizes matures, l'apex est recouvert d'un manteau formé de plusieurs couches mais le réseau n'est pas toujours installé. Les cellules corticales ne renferment que des tanins. Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: 0,5 μ m. Fig. 21: In the mature mycorrhizae, the apex is covered with a multi-layered mantle but the Hartig net is not always developed and the cortical cells contain only tannins. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: 0.5 μ m.

Fig. 22: Au niveau de la zone sous apicale, le réseau de Hartig est bien développé. L'interface se caractérise par un ciment de plus en plus abondant. Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: 1 μ m. Fig. 22: In the subapical zone,

the Hartig net is well developed. Matrix is more and more abundant in the interface. Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: $1\mu\text{m}$.

Fig. 23: Au stade plus avancé de la mycorrhization, les hyphes du réseau de Hartig sont peu vacuolisées alors que les cellules corticales (Cc) présentent un cytoplasme dégénéré. Test PATAg. Echelle: $1\mu\text{m}$. Fig. 23: In a more advanced stage of mycorrhization, the hyphae of Hartig net are not very vacuolized while the cortical cells (Cc) show a degenerated cytoplasm. PATAg test. Scale: $1\mu\text{m}$.

Fig. 24: Les cellules corticales et fongiques présentent un cytoplasme dégénéré dans la zone basale de la mycorrhize mature. Test PATAg. Echelle: $1\mu\text{m}$. Fig. 24: The cortical cells as well as the fungal cells present a degenerated cytoplasm in the basal zone of the mature mycorrhiza. PATAg test. Scale: $1\mu\text{m}$.







